

CARLOS SITTA SABAINI

**CORRELAÇÕES ENTRE HISTOPATOLOGIA, IMUNO-
HISTOQUÍMICA E IMUNOFENOTIPAGEM POR
CITOMETRIA DE FLUXO NO DIAGNÓSTICO DE
LINFOMAS NÃO-HODGKIN DE CÉLULAS B MADURAS,
HU-UFSC, 1999-2007**

**Trabalho apresentado à Universidade Federal
de Santa Catarina, como requisito para a
conclusão do Curso de Graduação em
Medicina.**

**Florianópolis
Universidade Federal de Santa Catarina
2010**

CARLOS SITTA SABAINI

**CORRELAÇÕES ENTRE HISTOPATOLOGIA, IMUNO-
HISTOQUÍMICA E IMUNOFENOTIPAGEM POR
CITOMETRIA DE FLUXO NO DIAGNÓSTICO DE
LINFOMAS NÃO-HODGKIN DE CÉLULAS B MADURAS,
HU-UFSC, 1999-2007**

**Trabalho apresentado à Universidade Federal
de Santa Catarina, como requisito para a
conclusão do Curso de Graduação em
Medicina.**

**Presidente do Colegiado: Prof. Dr. Carlos Eduardo Pinheiro
Professora Orientadora: Prof^ª. Dra. Joanita Ângela Gonzaga Del Moral
Coorientador: Dr. Antônio Carlos Estima Marasciulo**

**Florianópolis
Universidade Federal de Santa Catarina
2010**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe, Ermelinda [*in memoriam*].

AGRADECIMENTOS

Após a conclusão de um trabalho como este, seria imperdoável não notar que há muita gratidão a ser expressa. Limito-me, porém, a fazer singelos agradecimentos aos principais envolvidos na concretização desta obra.

Agradeço a Deus, em primeiro lugar, por ser a força que me impulsionou a chegar até aqui.

A toda minha família, que ainda de longe sempre se faz presente em minha vida, por todo incentivo e carinho. Em especial ao meu pai, João, por nossos harmoniosos diálogos cibernéticos, demonstrações diárias de confiança e esperança depositadas em mim e por ter me dado asas e raízes, minha eterna gratidão.

À minha namorada, Gabriela, por estar sempre ao meu lado, com um sorriso e um olhar de apoio, apesar de tantos programas adiados. Pela compreensão e paciência permeadas de carinho e dedicação diários, obrigado a minha amada.

À professora Joanita, que conheci sendo seu paciente, posteriormente aluno e agora orientando. Mais que orientadora, uma pessoa querida e sábia, que ensina além da medicina, um exemplo de dedicação e carinho à saúde e vida de seus pacientes. Agradeço a oportunidade de dividir momentos de aprendizado e confraternização durante os anos de convívio com essa mestra.

Ao “grupo de hemato”, antigos e novos integrantes, inclusive a turma do RHC, queridas pessoas que se empenharam nas aquisições de dados aqui discutidos, principalmente às companheiras de turma, Luiza e Thais, obrigado pelo conhecimento e orientadora compartilhados.

Ao Dr. Antônio Carlos, epidemiologista do HU, que me instruiu além da descrição dos dados deste trabalho, instigando discussões produtivas sobre o real valor da conduta médica na busca de benefícios coletivos.

À Dra. Lee, patologista do HU e CEPON, que em poucos encontros e muitos *e-mails* me direcionou nas primeiras decisões do trabalho e proporcionou acesso aos laudos de exames de imuno-histoquímica.

À Renata, bioquímica do Laboratório de Marcadores Celulares do HEMOSC, que com gentileza me apresentou à metodologia da imunofenotipagem por citometria de fluxo e forneceu auxílio importante na revisão dos laudos deste exame.

RESUMO

Objetivos: Investigar correlações entre análise histopatológica, imuno-histoquímica (IHQ) e por citometria de fluxo (CMF) para o diagnóstico e classificação de pacientes com linfoma não-Hodgkin de células B maduras (LNH-B), além de estimar gastos diretos com exames de imunofenotipagem.

Métodos: Foram avaliados todos os resultados de exames de pacientes com diagnóstico de LNH-B atendidos no HU-UFSC entre 1999 e 2007. Os laudos diagnósticos foram analisados a fim de se descrever suas contribuições na classificação definitiva. Foi verificada concordância estatística (coeficiente AC1) entre classificações propostas e expressões de marcadores celulares pelos métodos de imunofenotipagem. Os valores dos exames foram obtidos da Tabela de Procedimentos do SUS.

Resultados: Dos 85 casos avaliados, 17,6% foram classificados pela histopatologia sozinha, 22,4% apenas pela IHQ, 27,1% apenas pela CMF, 7,1% por histopatologia e IHQ, 8,2% por histopatologia e CMF, 12,9% por IHQ e CMF, 3,5% pelos três exames e 1,2% após correlação com exames laboratoriais. Dezenove casos foram classificados pela IHQ e CMF, apresentando concordância substancial ($AC1=0,71$), havendo apenas cinco com classificações divergentes. A concordância na avaliação de expressão de marcadores celulares pelos métodos foi quase perfeita ($AC1=0,87$), coincidindo em 92,2%. Os gastos estimados com exames de imunofenotipagem pelo SUS, no período, totalizaram R\$ 232.572,00.

Conclusões: Os exames avaliados tiveram papel complementar no diagnóstico e classificação de LNH-B, como preconiza a literatura, apresentando divergências na classificação de certos tipos de linfoma devido às limitações inerentes a cada método. O elevado gasto com exames diagnósticos ilustra o investimento necessário para a devida classificação dessas doenças desafiadoras.

ABSTRACT

Objectives: To obtain correlations and agreement between histopathology, immunohistochemistry (IHC) and flow cytometric immunophenotyping (FCI) in the diagnosis and classification of patients with mature B cells non-Hodgkin lymphoma (B-NHL), in addition to estimate direct expenditures with immunophenotyping.

Methods: We evaluated all patients diagnosed with B-NHL treated at the HU-UFSC between 1999 and 2007. Reports of diagnostic tests were correlated in order to describe its contributions in the final classification. Statistical agreement (AC1 coefficient) was calculated between proposed classifications and expressions of cell markers by immunophenotyping methods. The costs of the tests were obtained from the Table of Procedures of SUS.

Results: Eighty five cases of B-NHL were evaluated, 17.6% were classified by histopathology alone, 22.4% by IHC only, 27.1% by FCI only, 7.1% by histology and immunohistochemistry, 8.2% by histopathology and FCI, 12.9% by IHC and FCI, 3.5% by the three tests and 1.2% after correlation with laboratory tests. Nineteen cases were classified by IHC and FCI, showing substantial agreement ($AC1=0.71$), with only five divergent classifications. The agreement between cell markers evaluation by the methods was almost perfect ($AC1=0.87$), corresponding to 92.2%. Estimated expenses associated with immunophenotyping by SUS in the period totaled R\$ 232,572.00.

Conclusions: The evaluated tests plays complementary role in diagnosis and classification of B-NHL, as proposed in the literature, showing divergences in the classification of certain types of lymphoma because of the limitations inherent to each method. The high spending on diagnostic tests illustrates the investment needed for the proper classification of these challenging diseases.

LISTA DE QUADROS, TABELAS E FIGURAS

Quadro 1. Classificação da OMS-2008 para as neoplasias de células linfoides B maduras.....	3
Figura 1. Prevalência dos tipos de linfoma na população estudada	11
Figura 2. Número de exames diagnósticos realizados em cada ano.....	12
Figura 3. Conclusões dos laudos de exames histopatológicos	12
Figura 4. Origem de amostras utilizadas para exame de histopatologia	13
Figura 5. Conclusões dos laudos de exames imuno-histoquímicos	13
Figura 6. Origem de amostras utilizadas para exame de imuno-histoquímica.....	14
Figura 7. Conclusões dos exames de imunofenotipagem por CMF	14
Figura 8. Origem de amostras utilizadas para imunofenotipagem por CMF	15
Tabela 1. Exames responsáveis pela classificação do LNH-B	16
Tabela 2. Correlação entre laudos de IHQ e imunofenotipagem por CMF.....	17
Tabela 3. Coeficientes AC1 e concordância relativa quanto à classificação de LNH-B entre exames.....	18
Tabela 4. Coeficientes AC1 e concordância relativa entre marcadores pelos métodos de imunofenotipagem	18
Tabela 5. Expressão de marcadores na imunofenotipagem por CMF nos tipos de LNH-B....	19
Figura 9. Relação de gastos anuais aproximados com exames diagnósticos	19
Figura 10. Relação de gastos anuais aproximados com exames de imunofenotipagem	20
Tabela 6. Imunofenotipagem por CMF de linfonodos e tecidos extranodais no diagnóstico e classificação de LNH. Comparação com diferentes publicações.....	22

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AI	Amostra inadequada
ALK	<i>Kinase</i> relacionada a linfoma anaplásico
CEPON	Centro de Pesquisas Oncológicas
CID	Classificação Internacional de Doenças
CMF	Citometria de fluxo
EBV	<i>Epstein Barr Virus</i>
ESPL	Linfoma esplênico
EUA	Estados Unidos da América
FL	Linfoma folicular
HEMOSC	Centro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina
HHV8	Herpes vírus Humano 8
HU-UFSC	Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina
IHQ	Imuno-histoquímica
IWF	<i>International Working Formulation</i>
LB	Linfoma de Burkitt
LDGCB	Linfoma difuso de grandes células B
LEP	Linfoma de efusão primária
LL	Linfoma linfocítico
LLP	Linfoma linfoplasmocítico – macroglobulinemia de Waldenström
LNH	Linfoma não-Hodgkin
LNH-B	Linfoma não-Hodgkin de células B
LNHs	Linfomas não-Hodgkin
MALT	Tecido linfoide associado à mucosa / linfoma da zona marginal MALT
MCL	Linfoma das células do manto
NC	Linfoma não-Hodgkin não classificado
NEG	Negativo para neoplasia
NK	<i>Natural Killer</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAAF	Punção aspirativa por agulha fina
PET-scan	Tomografia computadorizada com emissão de pósitrons
REAL	<i>Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms</i>
RHC	Registro Hospitalar de Câncer
SAME	Serviço de Arquivo Médico e Estatístico
sIg	Imunoglobulina de superfície
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
SUS	Sistema Único de Saúde
TGI	Trato gastrintestinal
TL	Tricoleucemia

SUMÁRIO

FALSA FOLHA DE ROSTO	i
FOLHA DE ROSTO	ii
DEDICATÓRIA	iii
AGRADECIMENTOS	iv
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
LISTA DE QUADROS, TABELAS E FIGURAS	vii
LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES	viii
SUMÁRIO	ix
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Classificação dos LNH.....	2
1.2 O papel da imunofenotipagem no diagnóstico de LNH.....	4
2 OBJETIVOS	7
2.1 Objetivo geral.....	7
2.2 Objetivos específicos.....	7
3 MÉTODOS.....	8
3.1 Desenho.....	8
3.2 Local.....	8
3.3 Amostra	8
3.3.1 Critérios de exclusão.....	8
3.4 Procedimentos	8
3.5 Dados	9
3.6 Aspectos éticos	9
3.7 Análises estatísticas	10
4 RESULTADOS	11
4.1 Descrição da amostra	11
4.2 Características da amostra	11
4.3 Correlações entre exames no diagnóstico e classificação de LNH-B	15
4.3.1 Correlações entre histopatologia e imuno-histoquímica	16
4.3.2 Correlações entre histopatologia e imunofenotipagem por CMF.....	16

4.3.3	Correlações entre IHQ e imunofenotipagem por CMF	17
4.4	Correlação entre marcadores celulares	18
4.5	Perfil imunofenotípico dos LNH-B	18
4.6	Estimativa de gastos com exames diagnóstico	19
5	DISCUSSÃO	21
6	CONCLUSÕES	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		26
NORMAS ADOTADAS		29
ANEXO 1.....		30
ANEXO 2.....		31
FICHA DE AVALIAÇÃO		32

1 INTRODUÇÃO

Neoplasias originárias de tecidos linfoides compreendem um diversificado, porém intimamente relacionado, grupo de doenças que inclui linfomas de Hodgkin, linfomas não-Hodgkin (LNHs), mieloma múltiplo, leucemia linfocítica crônica e leucemia linfoblástica.^{1,2}

Os LNHs representam um grupo heterogêneo de mais de 20 doenças linfoproliferativas malignas, com características histológicas, imunológicas, moleculares, genéticas e clínicas distintas. Podem ser originados de populações de células B (grande maioria – cerca de 85 a 90% dos casos), células T e *Natural Killer* (NK).²

A incidência global de LNH vem aumentando drasticamente nas últimas poucas décadas, apesar da taxa de aumento ter desacelerado recentemente. Nos EUA, cerca de 55.000 a 60.000 novos casos de LNH são diagnosticados anualmente, sendo que em 2006, ano com estatística disponível mais recente, foram diagnosticados 29.323 casos em homens e 25.746 casos em mulheres. No mesmo ano, 20.593 pessoas morreram de LNH, incluindo 10.932 homens e 9.661 mulheres.^{3,4} Globalmente, LNH é mais comum em homens que em mulheres e sua incidência é maior na América do Norte e Austrália.⁵ Apesar do aumento na incidência, queda anual de 5,1% na mortalidade por linfoma vem sendo observada na Austrália a partir do ano 2000, segundo estudo publicado em 2008.⁶

Os diversos tipos de linfoma, surgindo de diferentes estágios de maturação celular na ontogenia linfocitária, são extremamente variados em epidemiologia, apresentação clínica e no seu manejo adequado. A gama de variedades inclui doenças que rotineiramente apresentam-se em estágios iniciais ou avançados, por isso requerem um estadiamento, o qual deve abranger avaliação de medula óssea, líquido cefalorraquidiano ou trato gastrointestinal, além de exames radiológicos, como tomografia computadorizada simples e, se necessário, radiologia funcional (tomografia por emissão de pósitrons – *PET-scan*).⁷ São tratados com estratégias que vão desde a observação clínica até a quimioterapia intensiva combinada, ou terapia de consolidação de alta dosagem seguida de transplante autólogo ou alogênico de medula óssea.^{8,9}

Um entendimento dos princípios dos linfomas, incluindo a importante e precisa avaliação diagnóstica, a relevância do estadiamento para o planejamento terapêutico, além da valorização de elementos únicos da história natural de tipos específicos de linfoma, são pré-requisitos essenciais para o manejo apropriado de pacientes com essas doenças desafiadoras.⁸

1.1 Classificação das neoplasias linfoides

Historicamente, poucas áreas da patologia geraram tanta controvérsia quanto no que se refere à classificação das neoplasias linfoides. A difícil reprodutibilidade dos dados em populações diferentes refletiu no surgimento de diversas tentativas de classificação histológica dos LNH nas décadas seguintes. No entanto esta situação tem melhorado graças ao avanço no uso de ferramentas diagnósticas moleculares mais objetivas.^{2,9}

A primeira descrição de tumor originado do tecido linfoide foi realizada em 1832, por Thomas Hodgkin, sendo que, em 1865, esse tipo de tumor recebeu a nomenclatura doença de Hodgkin. Posteriormente, percebeu-se que alguns tumores dos tecidos linfoides apresentavam características morfológicas diferentes da doença de Hodgkin, receberam então a denominação de linfomas não-Hodgkin para distingui-los daqueles originalmente descritos.¹⁰

Nos Estados Unidos, as primeiras classificações foram a de Rappaport, introduzida em 1956, a de Lukes-Collins, introduzida em 1974, seguida pela *International Working Formulation (IWF)*, publicada em 1982, que essencialmente substituiu as anteriores, combinando conceitos e termos da classificação de Rappaport, Lukes-Collins e da classificação de Kiel, que fora desenvolvida e continuaria ainda sendo amplamente utilizada na Europa.¹¹

Ainda assim, um alto grau de variabilidade inter e intraobservador continuava existindo tanto no diagnóstico quanto na classificação de linfomas não-Hodgkin, refletindo provavelmente a falta de uso padronizado da imunofenotipagem, falta de acesso universal à citogenética e certas definições de tipos de linfoma que estavam em uso. Nesse contexto, foi introduzida em 1994 uma proposta para nova abordagem quanto à classificação de linfomas não-Hodgkin, por um grupo de hematopatologistas da Europa e Estados Unidos, englobando características imunológicas, alterações genéticas e fatores clínicos das doenças, em vez de basear-se apenas em recursos histopatológicos das células tumorais. Esse sistema de classificação ficou conhecido como “*Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms*” (REAL).¹² Esta abordagem subsequentemente foi revisada na elaboração da classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS), formulada em 1997 e publicada em 2001, sendo adotada mundialmente desde então.¹³⁻¹⁵

A classificação atualizada e publicada pela OMS em 2008 utiliza características morfológicas, imunofenotípicas, genotípicas e clínicas na distribuição das neoplasias linfoides entre cinco categorias maiores, que são separadas de acordo com suas células progenitoras: 1. Neoplasias de células B precursoras (imaturas); 2. Neoplasias de células B periféricas

(maduras); 3. Neoplasias de células T precursoras (imaturas); 4. Neoplasias de células T e NK (*natural killer*) periféricas (maduras) e 5. Neoplasias de células de Reed-Sternberg e variantes (linfoma de Hodgkin). O **Quadro 1** apresenta os tipos de neoplasias linfoides de células B maduras.^{2,16}

Quadro 1. Classificação da OMS-2008 para as neoplasias de células linfoides B maduras.

I. NEOPLASIAS DE CÉLULAS B MADURAS	CID Oncológico
Leucemia linfocítica crônica / linfoma linfocítico	9823/3
Leucemia prolinfocítica B	9833/3
Linfoma da zona marginal esplênico	9689/3
Tricoleucemia	9940/3
Linfoma/leucemia de células B esplênico, inclassificável	9591/3
Linfoma esplênico de pequenas células B difuso da polpa vermelha	9591/3
Variante de tricoleucemia	9591/3
Linfoma linfoplasmocítico	9671/3
Macroglobulinemia de Waldenström	9761/3
Doenças de cadeias pesadas	9762/3
Doença de cadeia pesada alfa	9762/3
Doença de cadeia pesada gama	9762/3
Doença de cadeia pesada mu	9762/3
Mieloma de células plasmáticas	9732/3
Plasmocitoma ósseo solitário	9731/3
Plasmocitoma extraósseo	9734/3
Linfoma da zona marginal extranodal associado a mucosa (MALT)	9699/3
Linfoma da zona marginal nodal	9699/3
Linfoma da zona marginal pediátrico	9699/3
Linfoma folicular	9690/3
Linfoma folicular pediátrico	9690/3
Linfoma do centro folicular cutâneo primário	9597/3
Linfoma das células do manto	9673/3
Linfoma difuso de grandes células B (LDGCB), SOE	9680/3
Linfoma de grandes células B rico em células T/histiócitos	9688/3
LDGCB primário do sistema nervoso central	9680/3
LDGCB cutâneo primário	9680/3
LDGCB EBV positivo do idoso	9680/3
LDGCB associado a inflamação crônica	9680/3
Granulomatose linfomatoide	9766/1
Linfoma de grandes células B mediastinal (tímico) primário	9679/3
Linfoma de grandes células B intravascular	9712/3
Linfoma de grandes células B ALK positivo	9737/3
Linfoma plasmablástico	9735/3
Linfoma de grandes células B surgindo na doença de Castleman associado ao HHV8	9738/3
Linfoma de efusão primária	9678/3
Linfoma de Burkitt	9687/3
Linfoma de células B, inclassificável, com características intermediárias entre LDGCB e linfoma de Burkitt	9680/3
Linfoma de células B, inclassificável, com características intermediárias entre LDGCB e linfoma de Hodgkin clássico	9596/3

Entre as neoplasias linfoides, características morfológicas e imunológicas distinguem os linfomas de Hodgkin dos linfomas não-Hodgkin. O estágio de diferenciação, as características morfológicas, fenotípicas, genotípicas e clínicas distinguem os tipos de LNHs. Os linfomas e as leucemias linfoides correspondentes são consideradas fases diferentes (sólida *versus* circulante) de uma mesma doença.^{12,16}

Outra forma de agrupar os diferentes tipos de LNH-B é comumente feita segundo o seu comportamento, em linfomas indolentes ou agressivos. Os linfomas indolentes (ou de baixo-grau) são geralmente caracterizados como neoplasias de linfócitos pequenos, com baixa taxa de proliferação e alta proporção de células em repouso. Frequentemente são nodais e acometem a medula óssea ao diagnóstico. Geralmente são associados com uma sobrevida longa, mesmo se permanecerem sem tratamento ou se apresentarem resposta parcial a ele, no entanto tendem a não ser curáveis pelos tratamentos convencionais. Entre os principais LNHs indolentes estão os linfomas foliculares grau I e II, linfocítico e da zona marginal nodal ou extranodal (MALT).¹⁷⁻¹⁹

Os linfomas agressivos (ou de alto-grau) são, geralmente, compostos por células intermediárias ou grandes, com alta taxa de proliferação. O acometimento extranodal é mais comum, com menor frequência de infiltração da medula óssea. A doença apresenta-se em estágio avançado em 70 a 75% dos casos ao diagnóstico e apresentam progressão rápida, e possivelmente fatal, se não forem tratados ou não responderem completamente à terapia. O LDGCB é o principal representante da classe dos linfomas agressivos. Os tipos linfoma de Burkitt e o linfoma/leucemia linfoblástica de precursores B são ainda classificados como altamente agressivos.¹⁷⁻¹⁹

O LDGCB e o linfoma folicular são os tipos mais comuns de LNH e correspondem a cerca de 30 a 40% e 20 a 30% da incidência de LNH, respectivamente. Desta forma, estes dois tipos de linfoma já são responsáveis por mais da metade dos casos de LNH.^{6,15,20}

Em estudos prévios, que avaliaram características clínicas, prevalência e sobrevida de LNH de células B maduras de pacientes em acompanhamento médico no HU-UFSC entre 1998 e 2007, demonstraram que os tipos LDGCB, folicular e linfoma das células do manto foram os mais prevalentes, com 41%, 15% e 13%, respectivamente.^{21,22}

1.2 Imunofenotipagem no diagnóstico de LNH

A morfologia permanece a abordagem básica no diagnóstico e na classificação das neoplasias linfoides. Porém, o surgimento da imunofenotipagem de amostras obtidas de pacientes com doenças linfoproliferativas acrescentou muito na obtenção de um diagnóstico mais preciso, apropriada classificação e uma melhor compreensão dos mecanismos patogênicos subjacentes ao desenvolvimento destas neoplasias.^{8,9,23}

A imuno-histoquímica (IHQ), a citometria de fluxo (CMF) e os estudos de genética molecular são importantes metodologias para definição de algumas doenças, são úteis no diagnóstico de casos difíceis e melhoram a reprodutibilidade interobservador. Alguns

benefícios desses métodos diagnósticos incluem diferenciação de infiltrado linfoide neoplásico *versus* reativo, diferenciação de neoplasia linfoide *versus* não-linfoide, além de subclassificação de linfomas. Técnicas de biologia molecular, infelizmente, ainda não estão amplamente disponíveis em nosso meio clínico, permanecem mais restritas a áreas de pesquisas laboratoriais, por isso cabe principalmente à imunofenotipagem o papel de complementação diagnóstica para os LNHs.^{8,24,25}

No contexto do diagnóstico de linfomas, a técnica de IHQ tem a vantagem de que células de interesse sejam identificadas por morfologia e fenótipo, pode ainda ser utilizada retrospectivamente em tecidos fixados previamente, porém, com a desvantagem da fixação poder levar à perda de algumas células ou antígenos celulares.²⁶ Entretanto, apenas um único marcador por lâmina pode ser utilizado rotineiramente nesses tecidos, permitindo que apenas cerca de 100 células sejam examinadas. Além disso, há reconhecida dificuldade na demonstração de imunoglobulinas de cadeia leve, utilizadas na identificação de clonalidade de linfócitos B, por este método, devido à perda de proteínas da superfície celular durante o processo de fixação.^{24,27-29}

A despeito de suas limitações, estudos recentes comprovam que a IHQ confere um aumento na sensibilidade em detectar infiltração de medula óssea por neoplasia linfoide, quando realizada em amostras analisadas previamente apenas por histopatologia. Consequentemente, a técnica passa a ser utilizada não apenas para fins diagnósticos, mas, com adequados painéis de marcadores celulares, demonstra utilidade no estadiamento, predizendo prognóstico e sobrevida em alguns tipos de LNH.³⁰⁻³³

Já a imunofenotipagem por citometria de fluxo (CMF), ao contrário, permite uma definição mais individualizada de tipos celulares de forma que as células de interesse são identificadas por uma combinação de características físicas e fenotípicas pelo uso de múltiplos anticorpos conjugados diretamente com diferentes marcadores fluorescentes e os resultados ficam disponíveis em poucas horas após a obtenção do material. Esta técnica também tem a habilidade de mais facilmente inferir monoclonalidade em amostras de linfomas de células B, pela expressão das imunoglobulinas de cadeia leve, *kappa* e *lambda*, expressas na superfície celular.^{34,35}

A técnica de imunofenotipagem por CMF tornou-se uma ferramenta objetiva e quantitativa que permite rápidas análises de múltiplos parâmetros em grande número de células (de 20.000 a 50.000 células por amostragem) que podem ser obtidas de pequenas amostras de tecidos (0,1 cm³ ou até menor). Além disso, a análise de pequenas amostras é facilitada pela aplicação de marcadores triplos ou múltiplos (até 10 marcadores de uma vez)

que permitem, em um único processamento, a detecção de expressões combinadas de antígenos, respectivamente, na mesma célula. Outra vantagem é que as informações obtidas pelo citômetro de fluxo ficam armazenadas em um banco de dados, permitindo o reestudo dos achados, caso necessário.^{23,36-39}

As maiores desvantagens da CMF para imunofenotipagem de LNH são correlações morfológicas limitadas, erros de amostras potenciais devido à alta sensibilidade do método e a necessidade de preparação de suspensões celulares viáveis à análise.^{23,26} Além disso, a técnica não permite armazenamento do material para estudo retrospectivo, sendo necessária coleta de nova amostra quando for preciso ampliar o estudo com acréscimo de marcadores.^{29,38}

Muitos estudos têm comprovado a utilidade da CMF no diagnóstico de linfomas em amostra de punção aspirativa por agulha fina (PAAF) de diversos tecidos, assim como no estadiamento e seguimento de pacientes com a doença.^{25,34,35,37,39-46} Uma série de estudos mais recentes demonstraram 80 a 97% de sensibilidade e 87 a 100% de especificidade da CMF no diagnóstico de LNH.^{25,37,39,41,47-51} Um estudo comparativo recente demonstrou uma concordância global de 88% entre a classificação de LNH pela CMF *versus* histopatologia e IHQ.²⁷ Outro estudo obteve correlação de 76 a 100% entre expressão de todos os marcadores utilizados rotineiramente em IHQ e CMF de diferentes tecidos.²⁹

Nosso estudo avaliou os dados de pacientes com LNH-B e observou a concordância dos diagnósticos imunofenotípicos realizados por citometria de fluxo e imuno-histoquímica. Devido à indisponibilidade de técnicas de biologia molecular em nosso serviço, a adequada classificação de LNHs é provida por um deles ou ambos os exames, quando necessário, sendo realizados em serviços distintos e independentes. Devido às características peculiares de cada técnica, principalmente no que diz respeito ao custo, superior na CMF, e aos métodos de obtenção de materiais para amostras, sempre mais invasivo na obtenção de tecido para estudo imuno-histoquímico, almeja-se avaliar a correlação e descrever a contribuição de cada exame ao diagnóstico preciso de LNHs no período estudado.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Obter correlações entre exames de histopatologia, imuno-histoquímica e imunofenotipagem por citometria de fluxo dos pacientes com o diagnóstico de linfoma não-Hodgkin de células B maduras (LNH-B), atendidos no Hospital Universitário no período compreendido entre janeiro de 1999 e dezembro de 2007.

2.2 Objetivos Específicos

1. Descrever a contribuição de cada exame na correta classificação de LNH-B.
2. Verificar concordância entre imunofenotipagem por CMF e IHQ no diagnóstico e classificação de LNH-B.
3. Verificar concordância na avaliação de expressão de marcadores celulares entre os dois métodos de imunofenotipagem.
4. Avaliar sensibilidade do método de imunofenotipagem por CMF no diagnóstico e classificação de LNH-B.
5. Descrever o perfil imunofenotípico dos tipos de linfoma na população estudada.
6. Estimar gastos com exames de IHQ e imunofenotipagem por CMF no diagnóstico e seguimento de LNH-B durante o período avaliado.

3 MÉTODOS

3.1 Desenho

Foi realizado um estudo retrospectivo, observacional e descritivo de uma série de casos.

3.2 Local

Este estudo foi realizado no Serviço de Arquivo Médico e Estatístico (SAME) e no Registro Hospitalar de Câncer (RHC) do Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina, em Florianópolis.

3.3 Amostra

Foi avaliada uma amostra não probabilística composta por pacientes atendidos no HU-UFSC, que receberam o diagnóstico de linfoma não-Hodgkin de células B maduras no período compreendido entre janeiro de 1999 e dezembro de 2007 e que não preencheram nenhum dos critérios de exclusão descritos abaixo. Foram elegíveis para participar deste estudo 114 pacientes. Compuseram a amostra final 85 pacientes.

3.3.1 Critérios de exclusão

- Idade menor que 15 anos.
- Acompanhamento médico do linfoma realizado fora do HU-UFSC.
- Prontuários não disponibilizados pelo SAME.
- Ausência de laudo de histopatologia, imuno-histoquímica ou imunofenotipagem por CMF acessível ao pesquisador.
- Leucemia linfocítica crônica, neoplasias linfoblásticas e de células plasmocitárias.
- Recusa do paciente.

3.4 Procedimentos

A coleta dos dados foi realizada primeiramente durante o ano de 2008 pelo Grupo de Estudos Clínicos e Laboratoriais em Hemopatias, do qual o autor é integrante. As informações foram colhidas através dos prontuários dos pacientes selecionados, disponibilizados pelo SAME. Algumas informações foram acessadas através do sistema de informática do hospital

(principalmente resultados de exames complementares). Todos os integrantes utilizaram uma ficha padronizada para a coleta de dados (**Anexo 1**).

Em 2010 o pesquisador principal revisou os laudos de exames de histopatologia, IHQ e imunofenotipagem por CMF, realizados para diagnóstico de LNH-B em serviços vinculados ao Sistema Único de Saúde (SUS). Os dois primeiros foram obtidos no Serviço de Anatomia Patológica (SAP) do HU-UFSC ou do laboratório de patologia do Centro de Pesquisas Oncológicas (CEPON). O último foi acessado no Laboratório de Marcadores Celulares do Centro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina (HEMOSC).

Os pacientes que receberam o diagnóstico de LNH-B no período anterior a publicação da classificação atual da OMS para neoplasias linfoides (2008), tiveram os resultados de exames de histopatologia, imuno-histoquímica e citometria de fluxo revistos pela hematologista e pela patologista do hospital, para adequá-los à atual classificação.

A estimativa de gastos com exames no período foi baseada nos valores declarados na Tabela de Procedimentos do SUS.⁵² Foram utilizados os valores atualizados de julho de 2010 e desconsiderada sua variação no período. Para o cálculo de gastos anuais, foi multiplicado o número de exames realizados naquele ano pelo número de marcadores utilizados em cada exame. Não foram estimados os custos hospitalares indiretos para a realização dos exames, como gastos com internações ou biópsias cirúrgicas para obtenção das amostras analisadas.

3.5 Dados

Os seguintes dados foram utilizados para a elaboração deste trabalho:

1. Idade ao diagnóstico.
2. Data e laudo de exames de histopatologia.
3. Data e laudo de exames de imuno-histoquímica (IHQ).
4. Data e laudo de exames de imunofenotipagem por citometria de fluxo (CMF).
5. Laudos de exames laboratoriais.
6. Custo de exames pela Tabela Unificada de Procedimentos do SUS.⁵²

3.6 Aspectos éticos

O presente estudo foi submetido à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC, obtendo sua aprovação sob o registro 224/2006. Em agosto de 2010 foi solicitada e aprovada alteração do projeto, que incluiu como pesquisador principal o autor deste trabalho, além de novo cronograma de atividades e objetivos específicos. (**Anexo 2**)

3.7 Análises estatísticas

O programa SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) 17.0⁵³ para Windows™ foi utilizado para a análise estatística. Para a análise descritiva dos dados foram empregadas frequências, porcentagens, médias, medianas e desvios padrão.

Existem vários métodos estatísticos para estimar a fidedignidade entre concordância de avaliadores em um estudo,^{54,55} para avaliar a concordância dos exames de imunofenotipagem neste trabalho foi escolhido o coeficiente alternativo de correlação de chance AC1⁵⁶, que objetiva inferir a probabilidade condicional de dois avaliadores concordarem, excluindo-se o acaso. Seu cálculo foi obtido através da ferramenta *AgreeStat*.⁵⁷ O uso de um coeficiente de concordância visa estimar a consistência entre dois ou mais avaliadores (ou exames) que qualificam em mesmas categorias, obtendo-se uma interpretação fiel dos dados, homogeneizando os instrumentos de avaliação e garantindo sua reprodutibilidade.

Nesta análise, foram usadas as interpretações das medidas de concordância entre avaliadores proposta por Landis e Koch,⁵⁸ que caracterizam valores < 0 como sem concordância, 0-0,20 como leve, 0,21-0,40 como justa, 0,41-0,60 como moderada, 0,61-0,80 como substancial e 0,81-1,0 como concordância quase perfeita.

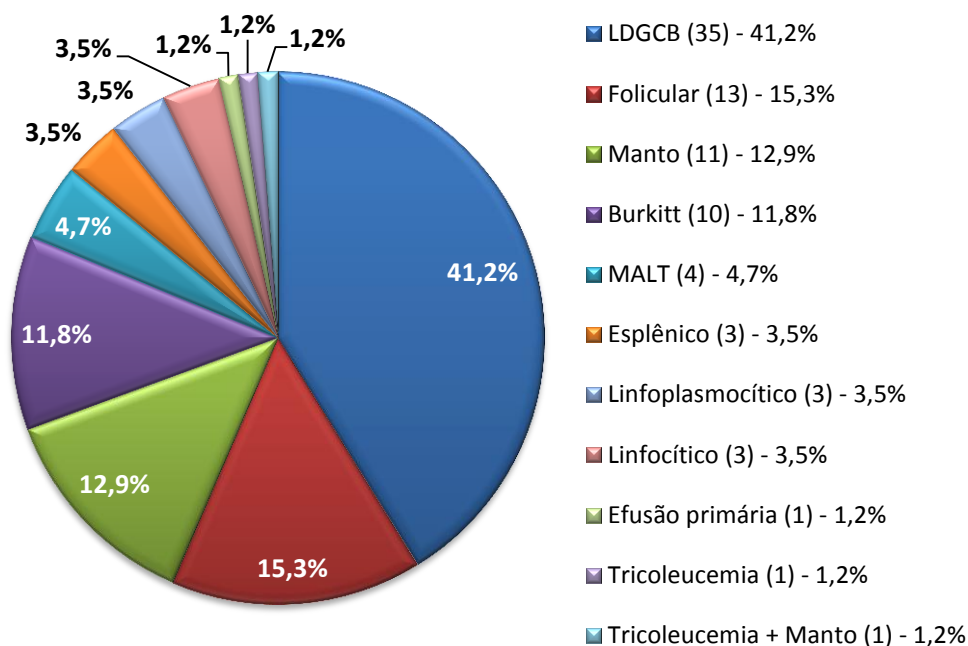
4 RESULTADOS

4.1 Descrição da amostra

Foram elegíveis para o estudo 114 pacientes. Destes, sete não tiveram seus prontuários disponibilizados pelo SAME, sete foram disponibilizados de maneira incompleta (falta de um ou mais volumes), três não tinham laudo de exame diagnóstico disponível para revisão, quatro eram menores de 15 anos, dois tinham o diagnóstico de linfoma linfoblástico e seis não fizeram acompanhamento médico no HU.

4.2 Características da amostra

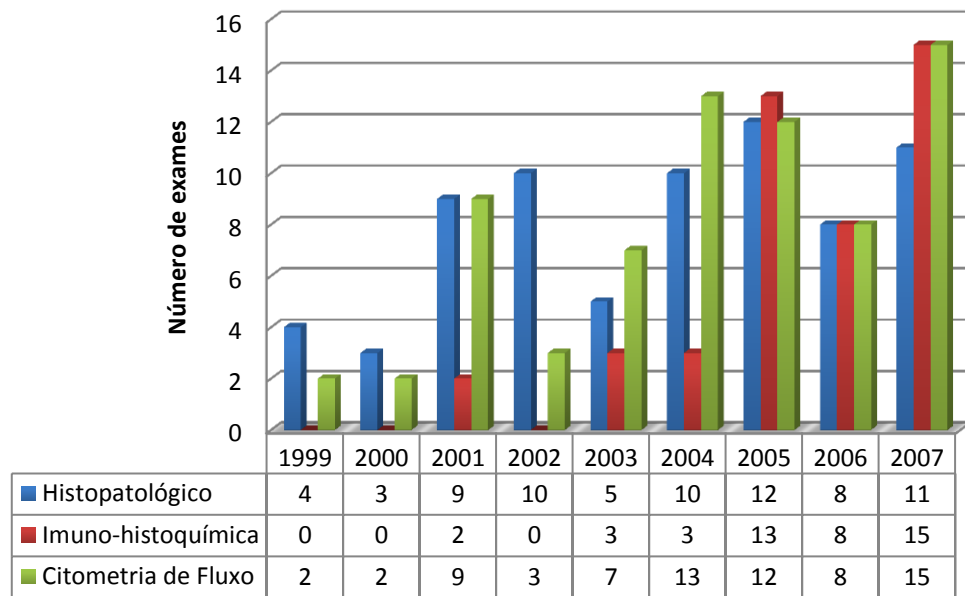
Participaram do estudo 85 pacientes. A população masculina representou a maioria, correspondendo a 52,9% dos casos. A idade mediana dos pacientes foi de 55 anos (amplitude entre 24 a 83 anos). O diagnóstico final dos casos está representado na **Figura 1**.



Fonte: SAME – HU.

Figura 1. Prevalência dos tipos de linfoma na população estudada (N=85).

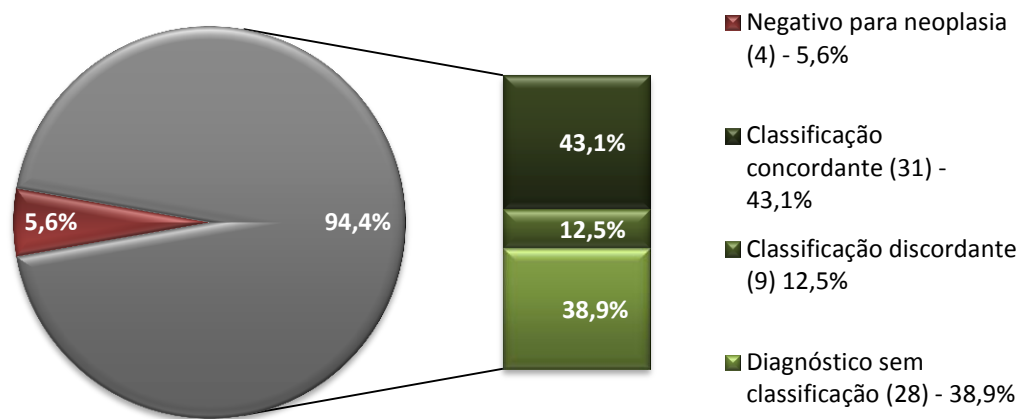
O número de exames realizados para o diagnóstico está representado na **Figura 2**.



Fonte: SAP-HU, Laboratório de Patologia-CEPON e Laboratório de Marcadores Celulares-HEMOSC.

Figura 2. Número de exames diagnósticos realizados em cada ano (n=187).

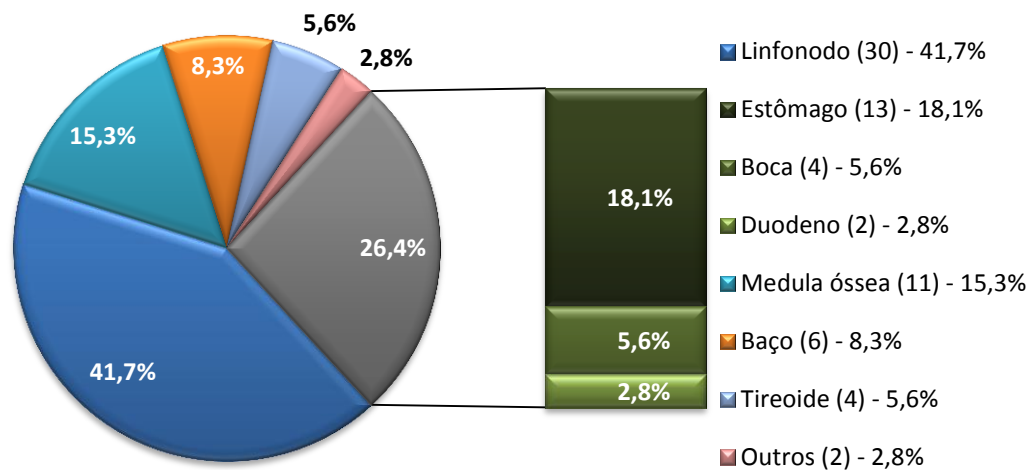
Dos 85 casos estudados, 72 (84,7%) tiveram laudo de exame histopatológico acessível. Os achados conclusivos dos exames estão representados na **Figura 3**.



Fonte: SAP – HU.

Figura 3. Conclusões dos laudos de exames histopatológicos (n=72).

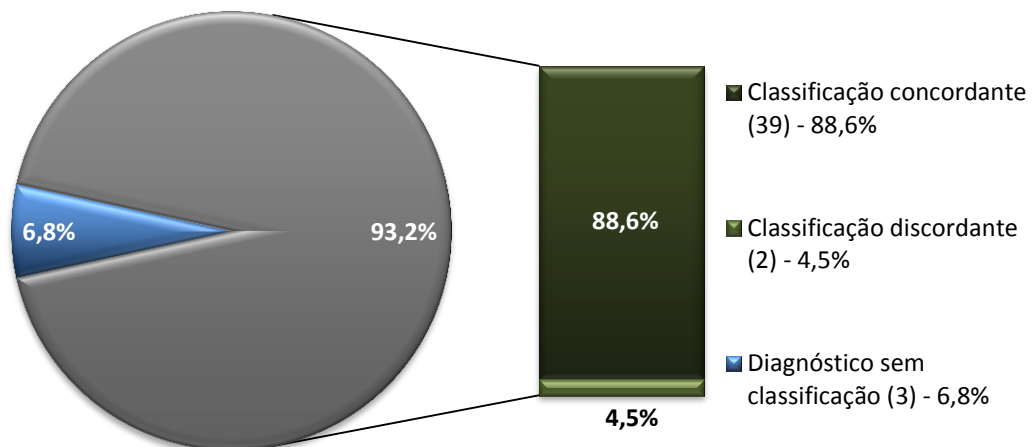
Os principais tecidos que deram origem às amostras para o exame histopatológico, obtidas através de biópsias excisionais ou incisionais, foram linfonodo (41,7%) e porções do trato gastrointestinal (26,4%). Os dados estão representados na **Figura 4**.



Fonte: SAP – HU.

Figura 4. Origem de amostras utilizadas para exame de histopatologia (n=72).

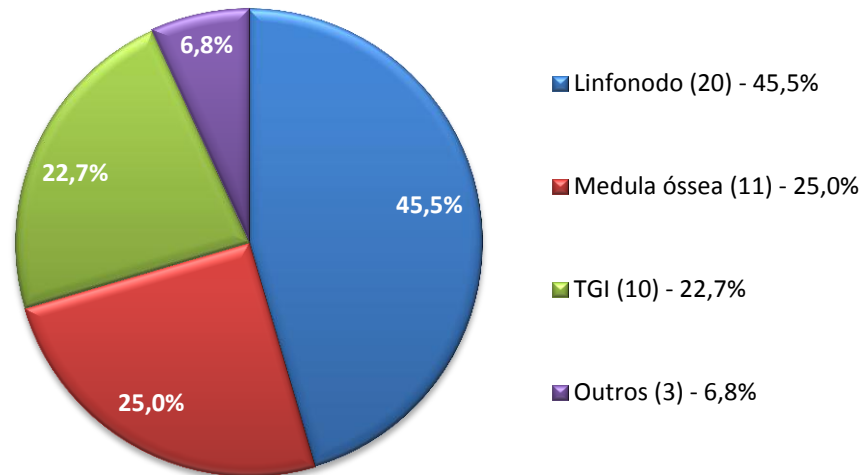
O exame de IHQ foi realizado em 44 casos (51,8%). Todos concluíram pelo diagnóstico de LNH e na grande maioria dos casos (88,6%) a classificação do LNH-B foi adequada por este método. Os dados referentes à classificação estão representados na **Figura 5**.



Fonte: SAP – HU e Laboratório de Patologia – CEPON.

Figura 5. Conclusões dos laudos de exames imuno-histoquímicos (n=44).

Para a realização da IHQ diagnóstica, as amostras foram obtidas principalmente de linfonodo (45,5%) e medula óssea (25%). Os dados estão representados na **Figura 6**.



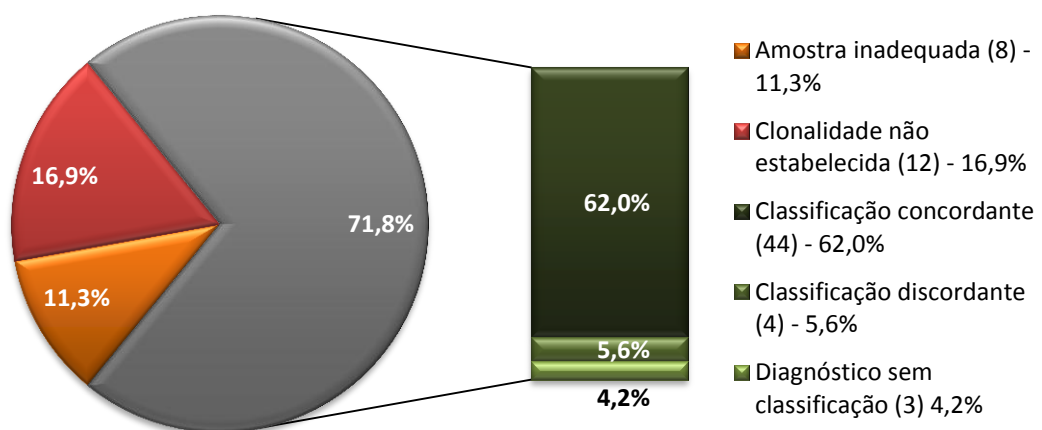
Fonte: SAP – HU e Laboratório de Patologia – CEPON.

Figura 6. Origem de amostras utilizadas para exame de imuno-histoquímica (n=44).

Dentre os exames de IHQ realizados para fim diagnóstico, a média do número de marcadores utilizados por exame foi de 6,51 ($\pm 2,96$), com mediana de sete, mínimo de dois e máximo de 15.

Dos 44 pacientes que tiveram amostras analisadas pelo método de IHQ para fins de diagnóstico e seguimento, a maioria (26 casos) teve apenas um exame realizado no período, em 15 casos foram realizados dois exames e apenas em três pacientes, três exames.

O exame de imunofenotipagem por CMF foi realizado em 71 casos (83,5%), com classificação diagnóstica correta na maioria deles (62,0%), apesar de em oito casos a amostra ter sido considerada inadequada para análise. Os achados conclusivos dos exames estão representados na **Figura 7**.

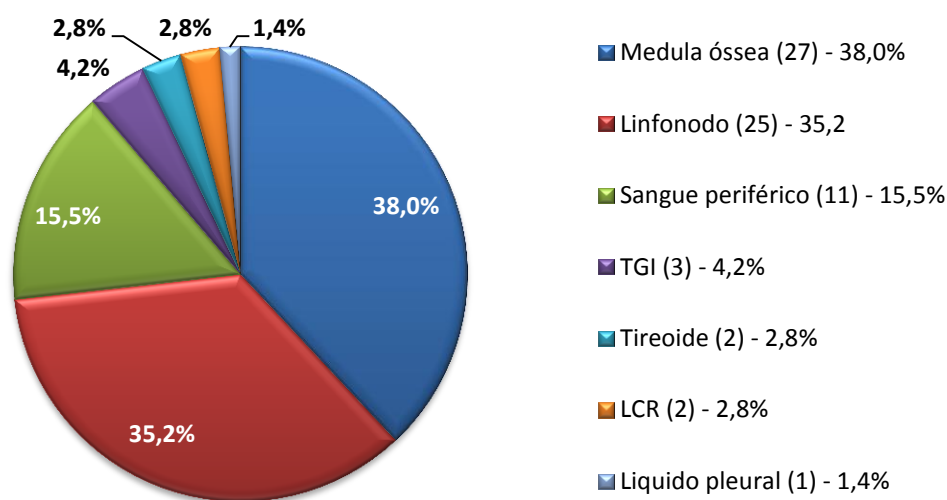


Fonte: Laboratório de Marcadores Celulares – HEMOSC.

Figura 7. Conclusões dos exames de imunofenotipagem por CMF (n=71).

De acordo com os dados acima, ao serem excluídos os oito casos em que a amostra era inadequada ao exame, dos 63 casos analisados pela CMF o diagnóstico de LNH-B foi feito em 51 deles, inferindo ao exame uma sensibilidade de 81,0% na população estudada e uma capacidade de classificar precisamente a doença em 86,3% dos casos.

Dentre os materiais de amostras utilizadas para o exame de imunofenotipagem por CMF diagnóstica, os principais tecidos foram medula óssea (38%) e linfonodo (35,2%). Os dados estão representados na **Figura 8**.



Fonte: Laboratório de Marcadores Celulares – HEMOSC.

Figura 8. Origem de amostras utilizadas para imunofenotipagem por CMF (n=71).

Para a realização da imunofenotipagem por CMF diagnóstica, foram utilizados em média 15 ($\pm 3,48$) marcadores por exame, com mediana de 16, mínimo de três e máximo de 19 marcadores.

Durante o período estudado, dentre os 71 pacientes que realizaram imunofenotipagem por CMF, a média de exames realizados por paciente, tanto para diagnóstico quanto para acompanhamento clínico, foi de 1,85 ($\pm 1,52$), com mediana de dois, mínimo de zero e máximo de sete exames por paciente.

4.3 Correlações entre exames no diagnóstico e classificação de LNH-B

Dentre os 85 casos de LNH-B estudados, 84 foram adequadamente classificados pelos métodos de histopatologia, IHQ ou imunofenotipagem por CMF. Um caso não foi classificado exclusivamente por estes exames, mas obteve a classificação de linfoma

linfoplasmocítico – macroglobulinemia de Waldenström quando correlacionado com exames laboratoriais (eletroforese de proteínas séricas e dosagem de IgM).

Os dados da **Tabela 1** representam as contribuições de cada exame na classificação dos LNH-B.

Tabela 1. Exames responsáveis pela classificação do LNH-B.

<i>Exames</i>	<i>n</i>	<i>(%)</i>
Histopatologia apenas	15	17,6
IHQ apenas	19	22,4
CMF apenas	23	27,1
Histopatologia e IHQ	6	7,1
Histopatologia e CMF	7	8,2
IHQ e CMF	11	12,9
Histopatologia, IHQ e CMF	3	3,5
Nenhum dos exames	1	1,2
Total	85	100,00

Fonte: SAP-HU, Laboratório de Patologia-CEPON e Laboratório de Marcadores Celulares-HEMOSC.

4.3.1 Correlações entre histopatologia e imuno-histoquímica

Ao serem correlacionados os laudos de exames histopatológicos com IHQ (39 casos), a técnica de imunofenotipagem permitiu a obtenção de correta classificação em 25 casos que previamente não foram diagnosticados ou classificados corretamente pelo exame exclusivamente morfológico. Em nove casos, os dois exames sugeriram o mesmo correto tipo de LNH-B, mas ainda em cinco casos a IHQ não conseguiu acrescentar uma classificação correta ao LNH.

4.3.2 Correlações entre histopatologia e imunofenotipagem por CMF

Quando os laudos de exames histopatológicos são correlacionados com a imunofenotipagem por CMF (60 casos), foi possível aprimorar a classificação pela técnica de imunofenotipagem em 25 casos que previamente não foram classificados corretamente, ou nem mesmo identificados apenas pela análise morfológica na amostra avaliada. Observa-se ainda que dez casos foram classificados corretamente por ambos os exames. Porém, 13 casos permaneceram sem classificação adequada, mesmo combinando os dois exames. Também houve 12 casos em que o exame histopatológico classificou corretamente o LNH enquanto a CMF não teve essa habilidade na amostra analisada.

4.3.3 Correlações entre IHQ e imunofenotipagem por CMF

Ao serem correlacionados os dois exames de imunofenotipagem, IHQ e CMF (37 casos), a concordância na classificação correta de LNH foi obtida em 14 casos. Em quatro casos a CMF foi capaz de acrescentar uma classificação correta quando a IHQ não se propôs a classificar o LNH ou concluiu por um tipo discordante do diagnóstico correto. Mas em 18 casos, foi a IHQ que conseguiu obter uma classificação adequada, enquanto a CMF não teve essa habilidade (**Tabela 2**).

Tabela 2. Correlação entre laudos de IHQ e imunofenotipagem por CMF.

<i>Imunofenotipagem por CMF</i>	<i>Imuno-histoquímica</i>									NC	No.
	LDGCB	LF	MCL	LB	MALT	ESPL	LL	TL	TL+MCL		
LDGCB	3									1	4
LF		3								1	4
MCL	1		3								4
LB	3										3
MALT			1		1						2
ESPL						1					1
LL							1				1
TL								1			1
TL+MCL									1		1
NC	1		1								2
AI	2	1		2							5
NEG	7				1					1	9
Total	17	4	5	2	2	1	1	1	1	3	37

Fonte: Laboratório de Patologia – CEPON e Laboratório de Marcadores Celulares – HEMOSC.

LDGCB, linfoma difuso de grandes células B; FL, linfoma folicular; MCL, linfoma das células do manto; LB, linfoma de Burkitt; ESPL, linfoma esplênico; LL, linfoma linfocítico; TL, tricoleucemia; NC, linfoma B não classificado; AI, amostra inadequada; NEG, negativo para neoplasia (sem clonalidade).

Os tipos identificados pela CMF e não pela IHQ foram dois casos de linfoma de Burkitt, um caso de linfoma folicular e um de LDGCB. Já a IHQ identificou e classificou corretamente, sem que a CMF obtivesse classificação adequada, 12 casos de LDGCB, dois casos de linfoma de Burkitt, dois linfomas das células do manto, um folicular e um da zona marginal (MALT).

A IHQ sugeriu um tipo de LNH-B como diagnóstico em 41 casos, contribuindo com o diagnóstico final em 39 deles (95,1%), enquanto a imunofenotipagem por CMF concluiu por algum tipo de LNH-B em 48 casos, obtendo a correta classificação em 44 deles (91,6%). Ao serem analisados os 19 casos em que ambos os exames de imunofenotipagem sugeriram o diagnóstico de um tipo de LNH-B, obteve-se concordância relativa em 73,6% deles. A

Tabela 3 demonstra os índices AC1 e concordância relativa calculados nas correlações entre os exames de imunofenotipagem e o diagnóstico correto.

Tabela 3. Coeficientes AC1 e concordância relativa quanto à classificação de LNH-B entre exames.

<i>Correlação</i>	<i>n</i>	<i>AC1</i>	<i>IC 95%</i>	<i>Concordância</i>
IHQ vs. Diagnóstico	41	-	-	95,1%
CMF vs. Diagnóstico	48	-	-	91,6%
IHQ vs. CMF	19	0,71	0,47 - 0,94	73,6%

Fonte: Laboratório de Patologia – CEPON e Laboratório de Marcadores Celulares – HEMOSC.

4.4 Correlação entre marcadores celulares

Foi avaliada a concordância entre os dois métodos de imunofenotipagem, relativa à expressão dos marcadores celulares BCL2, BCL6, CD5, CD10, CD20 e CD45, apresentando os índices AC1 e concordância relativa descritos na **Tabela 4**.

Tabela 4. Coeficientes AC1 e concordância relativa entre marcadores pelos métodos de imunofenotipagem.

<i>Marcador</i>	<i>n</i>	<i>AC1</i>	<i>IC 95%</i>	<i>Concordância</i>
BCL2	10	0,66	0,11 - 1,00	80,0%
BCL6	2	1,00	1,00	100,0%
CD5	11	0,84	0,49 - 1,00	90,9%
CD10	12	0,73	0,31 - 1,00	83,3%
CD20	16	1,00	1,00	100,0%
CD45	14	1,00	1,00	100,0%
Total	65	0,87	0,75 - 0,99	92,2%

Fonte: Laboratório de Patologia – CEPON e Laboratório de Marcadores Celulares – HEMOSC.

Em relação às imunoglobulinas de cadeia leve, κ (kappa) e λ (lambda), nenhum dos três exames de IHQ em que sua expressão foi investigada apresentou resultado conclusivo. Já na imunofenotipagem por CMF, a detecção de clonalidade, pela presença de restrições na expressão de cadeia leve, fez parte da triagem inicial da amostra ao avaliar populações de células possivelmente neoplásicas.

4.5 Perfil imunofenotípico dos LNH-B

O perfil imunofenotípico dos tipos de LNH-B diagnosticados no estudo está representado na **Tabela 5**.

Tabela 5. Expressão de marcadores na imunofenotipagem por CMF nos tipos de LNH-B.

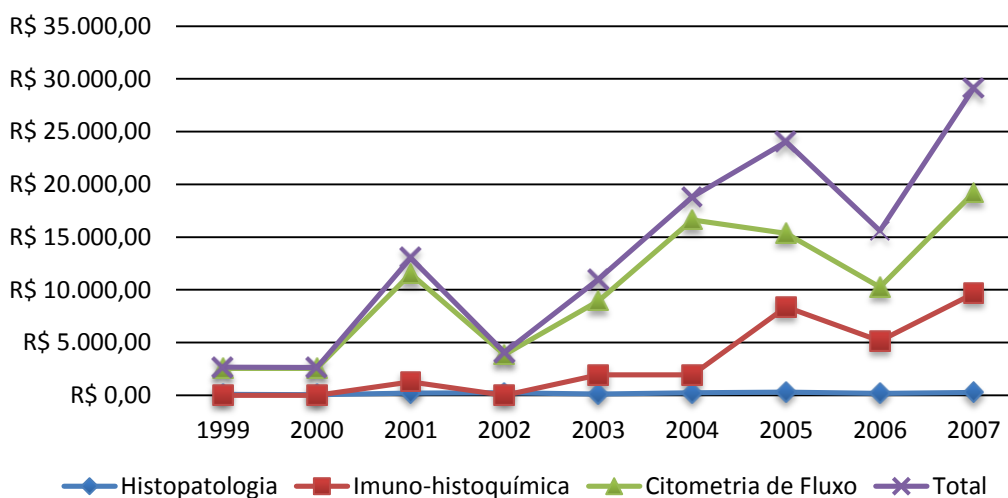
<i>Marcador</i>	<i>Tipo de LNH-B</i>									
	LDGCB	LF	MCL	LB	MALT	ESPL	LL	LLP	TL	LEP
BCL2	+	+	+	–	*	*	+	+	–	*
CD5	–	–	+	–	–	–	–/+	–	–	*
CD10	–/+	+	–	+	–	–	–	–	–	*
CD11c	–	–	–	–	–	–/+	–/+	–	+	*
CD19	+	+	+	+	+	+	+	–/+	+	–
CD20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–
CD23	–	–/+	–	–	–	–/+	+	–	–	*
CD25	–	–	+/-	–	+	–/+	–	–	+	*
CD38	–/+	+	–/+	+	+	–	–	+	–	+
sIg	+/-	+/-	+	+	+	+/-	+	–/+	–/+	*

Fonte: Laboratório de Marcadores Celulares – HEMOSC.

*= expressão não avaliada; LDGCB, linfoma difuso de grandes células B; FL, linfoma folicular; MCL, linfoma das células do manto; LB, linfoma de Burkitt; ESPL, linfoma esplênico; LL, linfoma linfocítico; LLP, linfoma linfoplasmocítico; TL, tricoleucemia; LEP, linfoma de efusão primária; sIg, imunoglobulina de superfície; +/- positivo em mais de metade dos casos; –/+ negativo em mais de metade dos casos.

4.6 Estimativa de gastos com exames diagnósticos de LNH

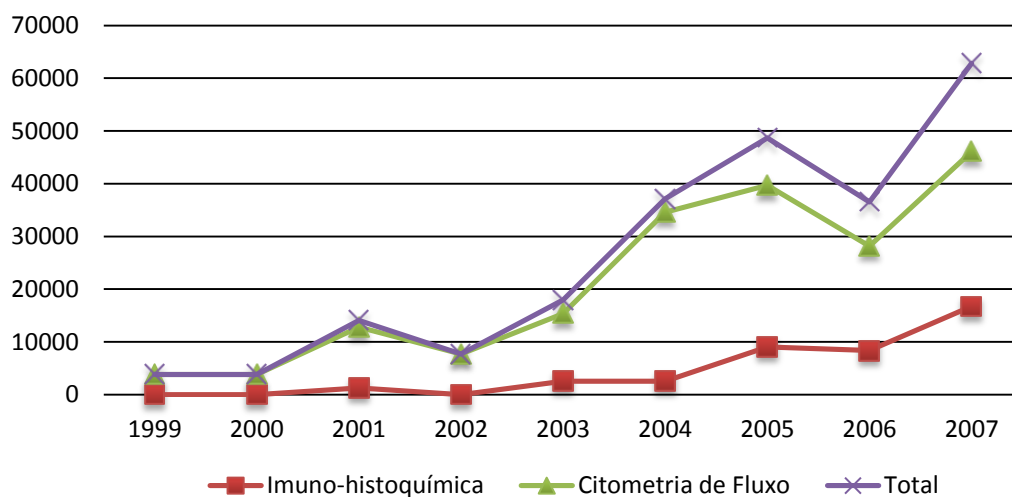
Segundo a Tabela de Procedimentos do SUS⁵², o valor pago por exame de imunofenotipagem, tanto CMF quanto IHQ, é calculado de acordo com o número de marcadores utilizados por exame. Atualmente é repassado o valor de R\$ 80,00 e R\$ 92,00 por marcador de CMF e IHQ, respectivamente. O exame de histopatologia para materiais congelados ou em parafina possui atualmente o valor de R\$ 24,00, segundo a mesma tabela. Estes valores sofreram pouca variação na última década e foram então utilizados para calcular os gastos anuais estimados com exames de histopatologia, IHQ e imunofenotipagem por CMF no diagnóstico de LNH-B, representados na **Figura 9**.



Fonte: SAP-HU, Laboratório de Patologia-CEPON e Laboratório de Marcadores Celulares-HEMOSC.

Figura 9. Relação de gastos anuais aproximados com exames diagnósticos.

A **Figura 10** ilustra os gastos aproximados com todos os exames de IHQ e imunofenotipagem por CMF, tanto diagnósticos quanto de seguimento, durante o período estudado. O valor total gasto pelo SUS para a realização dos exames de IHQ e CMF no período foi de R\$ 232.572,00. A média anual de gastos com estes exames foi de R\$ 25.841,33 e o gasto médio por paciente foi de R\$ 2.736,14.



Fonte: SAP-HU, Laboratório de Patologia-CEPON e Laboratório de Marcadores Celulares-HEMOSC.

Figura 10. Relação de gastos anuais aproximados com exames de imunofenotipagem.

5 DISCUSSÃO

Este trabalho demonstrou que os tipos de linfoma mais prevalentes na população estudada foram o LDGCB e o linfoma folicular, responsáveis por mais de 50% dos diagnósticos (**Figura 1**). Esta prevalência já fora descrita por Rodrigues²¹ e Marcelino²², mantendo-se ainda coerente com os descritos na literatura internacional.^{1,6,9,18}

Um paciente apresentou diagnóstico peculiar de dois tipos diferentes de neoplasia linfoide simultaneamente, com detecção de populações bi-clonais por ambos os métodos de imunofenotipagem, caracterizados por linfoma das células do manto e tricoleucemia, em mesma amostra tecidual.

Em mais da metade dos casos estudados (51,8%) a correta classificação dos LNH-B foi realizada pela citometria de fluxo sozinha (27,1%) ou associada aos outros métodos (8,2% com histopatológico, 12,9% com IHQ e 3,5% com ambos) (**Tabela 1**). Um fator que permite justificar este achado deve-se ao fato da imunofenotipagem por CMF vir sendo utilizada pelo nosso serviço desde o ano inicial do estudo, enquanto a IHQ veio ganhando espaço a partir de 2001, mas assumiu papel importante nos diagnósticos apenas a partir de 2005, quando, inclusive, superou numericamente a CMF no diagnóstico da doença (**Figura 2**). A correlação com outros exames laboratoriais foi ainda necessária em um caso de linfoma linfoplasmocítico – macroglobulinemia de Waldenström, demonstrando a necessidade de uma abordagem multifatorial no diagnóstico dos LNHs.^{9,11}

Vale ainda salientar que, apesar da imunofenotipagem por CMF ter sido responsável pela classificação da maioria dos LNH-B no período, também houve mais de um quarto destes exames em que a amostra analisada não apresentou conclusão diagnóstica (**Figura 7**). Os requerimentos inerentes ao método, como obtenção e manutenção de tecidos viáveis à análise citométrica, são provavelmente os maiores desafios da técnica.²⁶ A utilização de amostras obtidas com técnicas menos invasivas, como o sangue periférico, também pode reduzir a sensibilidade do método quando há ausência de leucemização.

Quanto à avaliação de infiltração de medula óssea, tecido mais utilizado como amostra para imunofenotipagem por CMF (**Figura 8**), além do caráter diagnóstico e classificatório do laudo, este passa a contribuir para o devido estadiamento da doença, levando à obtenção de melhores valores preditivos de prognóstico. Estudos recentes comprovaram que o uso

complementar de técnicas de imunofenotipagem deste tecido aprimora a sensibilidade na detecção de neoplasia em relação à histologia sozinha.^{30,46}

É interessante observar que as amostras utilizadas por cada exame nem sempre foram obtidas de mesmo material (**Figuras 4, 6 e 8**), mas o caráter sistêmico da doença justifica essa linha de investigação diagnóstica.^{8,9} Em muitos casos foi observado que após um exame histopatológico de linfonodo ou sítio extranodal que concluiu apenas por neoplasia linfoide, sem classificação, foi o exame de imunofenotipagem por CMF de medula óssea, ou até mesmo sangue periférico, que realizou o diagnóstico definitivo, além da devida classificação da doença.

Como nos resultados demonstrados, o presente estudo identificou sensibilidade de 81,0% do método de imunofenotipagem por CMF na identificação de LNH, além de capacidade de classificar o LNH corretamente em 86,3% dos casos em que propôs classificação. Devido ao estudo incluir apenas pacientes com diagnóstico definitivo de LNH, não foi possível analisar a especificidade do exame. Os achados foram semelhantes aos descritos na literatura internacional como ilustra a **Tabela 6**.^{25,37,39,41,47-51}

Tabela 6. Imunofenotipagem por CMF de linfonodos e tecidos extranodais no diagnóstico e classificação de LNH. Comparação com diferentes publicações.

<i>Ref.</i>	<i>Autor/ano</i>	<i>Sensibilidade (%)</i>	<i>Especificidade (%)</i>	<i>N de casos</i>	<i>N de LNH</i>	<i>LNH precisamente classificado (%)</i>
48	Dunphy and Ramos, 1997	80	100	73	60	71
41	Young <i>et al.</i> , 1998	80	100	100	72	95
49	Jeffers <i>et al.</i> , 1998	86	100	46	21	81
50	Meda <i>et al.</i> , 2000	95	85	290	199	70
47	Dong <i>et al.</i> , 2001	76	Não avaliada	139	105	77
37	Zeppa <i>et al.</i> , 2004	93	100	307	147	48
39	Bangerter <i>et al.</i> , 2007	85	100	131	115	Não avaliado
51	Swart <i>et al.</i> , 2007	97	87	124	64	Não avaliado
25	Zeppa <i>et al.</i> , 2010	95	99,4	446	245	51
	Presente estudo	81,0	Não avaliada	63	63	86,3

A técnica de IHQ, por outro lado, foi responsável por classificar correta e adequadamente a grande maioria dos casos que avaliou (88,6%). O exame não apresentou laudo que concluísse por ausência de neoplasia e apenas deixou de classificar o LNH, além de determinar seu fenótipo B, em 6,8% dos casos (**Figura 5**). Esta alta sensibilidade do método pode ser garantida pela análise morfológica prévia, que pode sugerir a utilização de marcadores imuno-histoquímicos quando se almeja aprimorar a conclusão diagnóstica, o que também evita, em muitos casos, o desperdício de marcadores em tecidos seguramente não neoplásicos.^{23,27}

Graças à análise morfológica e imunofenotípica combinadas pela técnica, a IHQ também foi responsável por aperfeiçoar a classificação de LNH-B em 25 casos quando associado à histopatologia e na maioria das vezes em que foi correlacionada aos laudos de imunofenotipagem por CMF (18 casos) (**Tabela 2**). Cabe ressaltar que, em muitos casos, apesar da imunofenotipagem por CMF ter sugerido o diagnóstico de linfoma das células do manto, sempre sugeriu a correlação com IHQ para detecção de Ciclina-D1, um marcador com alta especificidade para detecção indireta da translocação gênica comumente presente neste tipo de linfoma, t(11;14)(q13;q32), sendo identificado no núcleo de células fixadas e marcadas pelo método.^{23,24}

Este estudo identificou um grau de concordância estatística substancial (AC1=0,71) e concordância relativa de 73,6%, demonstrando semelhança em 14 de 19 casos na classificação de LNH-B pelos métodos de IHQ e imunofenotipagem por CMF em nosso serviço. A concordância entre a classificação sugerida por cada método e o diagnóstico adequado foi de 95,1% e 91,6% para os exames de IHQ e imunofenotipagem por CMF, respectivamente (**Tabela 3**).

O mais relevante talvez seja que dos cinco casos com classificação divergente entre os métodos, apenas um teve classificação de tipos pertencentes a categorias prognósticas diferentes (indolente *versus* agressivo). Este foi o caso em que um linfoma das células do manto, diagnosticado pela IHQ, foi divergentemente classificado como linfoma MALT pela imunofenotipagem por CMF.

Tais achados asseguram que ambos os métodos estão sendo responsáveis por classificar adequadamente os LNH-B diagnosticados. Muitas vezes são complementares entre si na obtenção de um diagnóstico conclusivo em alguns tipos de LNH-B, como é preconizado pela literatura em estudos recentes, sobretudo quando não há disponibilidade de estudos moleculares mais específicos, como em nosso serviço.^{9,11,27}

O estudo também observou uma concordância estatística quase perfeita (AC1=0,87) e elevada taxa de concordância relativa (92,2% e amplitude de 80 a 100%) em relação à avaliação de expressão dos marcadores celulares, entre os métodos de imunofenotipagem (**Tabela 4**). Estes dados também estão de acordo com a literatura referenciada.²⁹

Divergências nas expressões de marcadores celulares podem ser justificadas pela presença de populações heterogêneas de linfócitos que podem estar presentes em situações especiais, como no envolvimento parcial de um tecido linfoide por células do linfoma, pela presença de um linfoma folicular com células linfoides normais entre os folículos neoplásicos,

ou a presença de numerosos linfócitos não neoplásicos residuais permeando células neoplásicas de linfomas difusos.²⁷

Um fato relevante na divergência de expressões de marcadores celulares deu-se pela conhecida dificuldade da técnica de IHQ em detectar imunoglobulinas de cadeia leve. Nos únicos três exames de IHQ em que a expressão de cadeia leve foi avaliada, obteve-se positividade inconclusiva. Esse obstáculo pode ser justificado por relatos da literatura de que a IHQ não provê evidência clara de restrições de cadeia leve em superfícies celulares devido à grande quantidade de imunoglobulinas no espaço intersticial, o que mascara as imunoglobulinas monoclonais relativamente fracas na superfície de células B.^{23,49}

Todos os perfis imunofenotípicos encontrados nos tipos de LNH-B por este estudo enquadraram-se nos descritos pela literatura internacional,^{11,16,25,27,37,44} sem expressões aberrantes de marcadores celulares (**Tabela 5**).

Chamou a atenção o único caso de linfoma de efusão primária, tipo raro de LNH associado à infecção pelo Herpes vírus Humano 8 (HHV8), com maior prevalência em pacientes imunodeficientes relacionados à infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) ou idosos, que apresentou células com fenótipo anaplásico, característico da doença, com marcadores para linfócitos B (CD19, CD20, CD79b) e T (CD3, CD4 e CD8) negativos.²

Ao estimar gastos diretos com exames realizados pelo SUS para finalidade diagnóstica e seguimento de LNH-B, não tange a finalidade deste estudo obter estimativas de custos hospitalares ou sociais, mas objetiva ilustrar o crescimento no investimento necessário para que essas doenças desafiadoras sejam adequadamente classificadas, a fim de direcionar a terapêutica dentre as diversas condutas possíveis para cada tipo de LNH (**Figuras 9 e 10**).

6 CONCLUSÕES

1. Os três exames diagnósticos avaliados (histopatologia, IHQ e imunofenotipagem por CMF) tiveram papel complementar no diagnóstico de LNH-B, sendo a CMF responsável pela classificação da maioria dos casos.
2. Foi encontrada uma concordância estatística substancial ($AC1=0,71$) e concordância relativa de 73,6% entre os exames de imunofenotipagem na classificação de LNH-B.
3. A correlação entre concordância de expressão de marcadores celulares, avaliada pelos métodos de imunofenotipagem, foi encontrada em 92,3% dos casos, com amplitude de 80 a 100% entre marcadores, representando concordância estatística quase perfeita ($AC1=0,87$).
4. O exame de imunofenotipagem por CMF nos casos analisados apresentou sensibilidade de 81,0% e capacidade de classificar precisamente a doença em 86,3% dos casos em que propôs classificação.
5. As características imunofenotípicas dos tipos de linfoma avaliados foram concordantes com a descrita na literatura internacional, sem presença de expressões aberrantes de marcadores.
6. Os gastos diretos estimados com exames de IHQ e imunofenotipagem por CMF para diagnóstico e seguimento de LNH-B, no período estudado, foram de R\$ 232.572,00.

REFERÊNCIAS

1. Morton LM, Wang SS, Devesa SS, Hartge P, Weisenburger DD, Linet MS. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. *Blood*. Jan 1 2006;107(1):265-276.
2. Robbins SL, Kumar V, Cotran RS. *Robbins and Cotran pathologic basis of disease*. 8th ed. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier; 2010.
3. American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2002. Atlanta, Ga: American Cancer Society; 2002.
4. U.S. Cancer Statistics Working Group: 1999–2006 Incidence and Mortality Web-based Report. 2010; Disponível em <http://www.cdc.gov.uscs>. Accessed Jul 25, 2010.
5. Grulich AE, Vajdic CM. The epidemiology of non-Hodgkin lymphoma. *Pathology*. Dec 2005;37(6):409-419.
6. Coory M, Gill D. Decreasing mortality from non-Hodgkin lymphoma in Australia. *Intern Med J*. Dec 2008;38(12):921-924.
7. Cheson BD. Staging and evaluation of the patient with lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am*. Oct 2008;22(5):825-837, vii-viii.
8. Matasar MJ, Zelenetz AD. Overview of lymphoma diagnosis and management. *Radiol Clin North Am*. Mar 2008;46(2):175-198, vii.
9. Ansell SM, Armitage J. Non-Hodgkin lymphoma: diagnosis and treatment. *Mayo Clin Proc*. Aug 2005;80(8):1087-1097.
10. Aisenberg AC. Historical review of lymphomas. *Br J Haematol*. Jun 2000;109(3):466-476.
11. Good DJ, Gascoyne RD. Classification of non-Hodgkin's lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am*. Oct 2008;22(5):781-805, vii.
12. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood*. Sep 1 1994;84(5):1361-1392.
13. Jaffe ES, Harris NL, Diebold J, Muller-Hermelink HK. World Health Organization Classification of lymphomas: a work in progress. *Ann Oncol*. 1998;9 Suppl 5:S25-30.
14. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. *World Health Organization classification of tumors. Pathology and genetics of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon: IARC Press; 2001.
15. A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *Blood*. Jun 1 1997;89(11):3909-3918.
16. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Vol 2. 4th ed: IARC; 2008.
17. Fisher RI. Overview of non-Hodgkin's lymphoma: biology, staging, and treatment. *Semin Oncol*. Apr 2003;30(2 Suppl 4):3-9.
18. Hernandez J, Krueger JE, Glatstein E. Classification of Non-Hodgkin's Lymphoma: A Proposal. *Oncologist*. 1997;2(4):235-244.
19. Maartense E, Kluin-Nelemans HC, le Cessie S, Kluin PM, Snijder S, Noordijk EM. Different age limits for elderly patients with indolent and aggressive non-hodgkin lymphoma and the role of relative survival with increasing age. *Cancer*. Dec 15 2000;89(12):2667-2676.
20. Moller MB, Pedersen NT, Christensen BE. Conditional survival of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer*. May 15 2006;106(10):2165-2170.
21. Rodrigues M. *Análise de 69 casos de linfoma não-Hodgkin de células B no Hospital Universitário de Florianópolis entre 1998 e 2005* [Trabalho de Conclusão de Curso]. Florianópolis, SC: Curso de Medicina, Universidade Federal de Santa Catarina; 2007.

22. Marcelino CB. *Verificação de sobrevida em pacientes com linfoma não-Hodgkin atendidos no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina* [Trabalho de Conclusão de Curso]. Florianópolis, SC: Curso de Medicina, Universidade Federal de Santa Catarina; 2009.
23. Dunphy CH. Applications of flow cytometry and immunohistochemistry to diagnostic hematopathology. *Arch Pathol Lab Med*. Sep 2004;128(9):1004-1022.
24. Higgins RA, Blankenship JE, Kinney MC. Application of immunohistochemistry in the diagnosis of non-Hodgkin and Hodgkin lymphoma. *Arch Pathol Lab Med*. Mar 2008;132(3):441-461.
25. Zeppa P, Vigliar E, Cozzolino I, et al. Fine needle aspiration cytology and flow cytometry immunophenotyping of non-Hodgkin lymphoma: can we do better? *Cytopathology*. Feb 1 2010.
26. Dunphy CH. Contribution of flow cytometric immunophenotyping to the evaluation of tissues with suspected lymphoma? *Cytometry*. Oct 15 2000;42(5):296-306.
27. El-Sayed AM, El-Borai MH, Bahnassy AA, El-Gerzawi SM. Flow cytometric immunophenotyping (FCI) of lymphoma: correlation with histopathology and immunohistochemistry. *Diagn Pathol*. 2008;3:43.
28. Weiss LM, Loera S, Bacchi CE. Immunoglobulin light chain immunohistochemistry revisited, with emphasis on reactive follicular hyperplasia versus follicular lymphoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. May 2010;18(3):199-205.
29. Biesemier KW, Dent GA, Pryzwansky KB, Folds JD. A comparative study of frozen-section immunoperoxidase and flow cytometry for immunophenotypic analysis of lymph node biopsies. *Clin Diagn Lab Immunol*. May 1994;1(3):299-303.
30. Talaulikar D, Dahlstrom JE, Shadbolt B, Broomfield A, McDonald A. Role of immunohistochemistry in staging diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). *J Histochem Cytochem*. Oct 2008;56(10):893-900.
31. Baiyee D, Warnke R, Natkunam Y. Lack of utility of CD20 immunohistochemistry in staging bone marrow biopsies for diffuse large B-cell lymphoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. Mar 2009;17(2):93-95.
32. West RB, Warnke RA, Natkunam Y. The usefulness of immunohistochemistry in the diagnosis of follicular lymphoma in bone marrow biopsy specimens. *Am J Clin Pathol*. Apr 2002;117(4):636-643.
33. Martinez AE, Lin L, Dunphy CH. Grading of follicular lymphoma: comparison of routine histology with immunohistochemistry. *Arch Pathol Lab Med*. Jul 2007;131(7):1084-1088.
34. Costa FPS, Pereira FG, Vassalo J, Freitas LLL, Lorand-Metze I. A utilidade da citologia por punção com agulha fina aliada a imunofenotipagem no diagnóstico dos linfomas não-Hodgkin. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 2005;27:16-20.
35. Jack A, Barrans S, Blythe D, Rawstron A. Demonstration of a germinal center immunophenotype in lymphomas by immunocytochemistry and flow cytometry. *Methods Mol Med*. 2005;115:65-91.
36. Braylan RC, Orfao A, Borowitz MJ, Davis BH. Optimal number of reagents required to evaluate hematolymphoid neoplasias: results of an international consensus meeting. *Cytometry*. Feb 15 2001;46(1):23-27.
37. Zeppa P, Marino G, Troncone G, et al. Fine-needle cytology and flow cytometry immunophenotyping and subclassification of non-Hodgkin lymphoma: a critical review of 307 cases with technical suggestions. *Cancer*. Feb 25 2004;102(1):55-65.
38. Orfao A, Schmitz G, Brando B, et al. Clinically useful information provided by the flow cytometric immunophenotyping of hematological malignancies: current status and future directions. *Clin Chem*. Oct 1999;45(10):1708-1717.
39. Bangerter M, Brudler O, Heinrich B, Griesshamnuer M. Fine needle aspiration cytology and flow cytometry in the diagnosis and subclassification of non-Hodgkin's lymphoma based on the World Health Organization classification. *Acta Cytol*. May-Jun 2007;51(3):390-398.
40. Picardi M, Del Vecchio L, De Renzo A, Zeppa P, Luciano L, Rotoli B. Ultrasound-guided fine needle aspiration cytology combined with flow cytometric immunophenotyping for rapid

- characterization of deep-seated non-Hodgkin's lymphoma recurrence. *Haematologica*. Mar 2003;88(3):356-358.
41. Young NA, Al-Saleem TI, Ehya H, Smith MR. Utilization of fine-needle aspiration cytology and flow cytometry in the diagnosis and subclassification of primary and recurrent lymphoma. *Cancer*. Aug 25 1998;84(4):252-261.
 42. Bangerter M, Hildebrand A, Griesshammer M. Immunophenotypic analysis of simultaneous specimens from different sites from the same patient with malignant lymphoma. *Cytopathology*. Jun 2001;12(3):168-176.
 43. Gervasi F, Lo Verso R, Giambanco C, Cardinale G, Tomaselli C, Pagnucco G. Flow cytometric immunophenotyping analysis of patterns of antigen expression in non-Hodgkin's B cell lymphoma in samples obtained from different anatomic sites. *Ann N Y Acad Sci*. Dec 2004;1028:457-462.
 44. Kaleem Z, White G, Vollmer RT. Critical analysis and diagnostic usefulness of limited immunophenotyping of B-cell non-Hodgkin lymphomas by flow cytometry. *Am J Clin Pathol*. Jan 2001;115(1):136-142.
 45. Schniederjan SD, Li S, Saxe DF, et al. A novel flow cytometric antibody panel for distinguishing Burkitt lymphoma from CD10+ diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Clin Pathol*. May 2010;133(5):718-726.
 46. Talaulikar D, Shadbolt B, Dahlstrom JE, McDonald A. Routine use of ancillary investigations in staging diffuse large B-cell lymphoma improves the International Prognostic Index (IPI). *J Hematol Oncol*. 2009;2:49.
 47. Dong HY, Harris NL, Preffer FI, Pitman MB. Fine-needle aspiration biopsy in the diagnosis and classification of primary and recurrent lymphoma: a retrospective analysis of the utility of cytomorphology and flow cytometry. *Mod Pathol*. May 2001;14(5):472-481.
 48. Dunphy CH, Ramos R. Combining fine-needle aspiration and flow cytometric immunophenotyping in evaluation of nodal and extranodal sites for possible lymphoma: a retrospective review. *Diagn Cytopathol*. Mar 1997;16(3):200-206.
 49. Jeffers MD, Milton J, Herriot R, McKean M. Fine needle aspiration cytology in the investigation on non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Pathol*. Mar 1998;51(3):189-196.
 50. Meda BA, Buss DH, Woodruff RD, et al. Diagnosis and subclassification of primary and recurrent lymphoma. The usefulness and limitations of combined fine-needle aspiration cytomorphology and flow cytometry. *Am J Clin Pathol*. May 2000;113(5):688-699.
 51. Swart GJ, Wright C, Brundyn K, et al. Fine needle aspiration biopsy and flow cytometry in the diagnosis of lymphoma. *Transfus Apher Sci*. Aug 2007;37(1):71-79.
 52. SIGTAP - Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos e OPM do SUS. *DATA SUS* 2010; Disponível em <http://sigtap.datasus.gov.br>. Accessed Out 20, 2010.
 53. *SPSS for Windows* [computer program]. Version Release 17.0.0. Chicago: SPSS Inc.; 2008.
 54. Cohen J. A Coefficient of Agreement for Nominal Scales. *Educational and Psychological Measurement*. April 1, 1960 1960;20(1):37-46.
 55. Fleiss JL. Measuring nominal scale agreement among many raters. *Psychological Bulletin*. 1971;76(5):378-382.
 56. Gwet KL. Computing inter-rater reliability and its variance in the presence of high agreement. *Brit J Math Stat Psy*. May 2008;61:29-48.
 57. *AgreeStat* [computer program]. Gaithersburg, MD: Advanced Analytics, LLC; 2010.
 58. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977;33:159-174.

NORMAS ADOTADAS

Este trabalho foi realizado seguindo a normatização para trabalhos de conclusão do Curso de Graduação em Medicina, aprovada em reunião do Colegiado do Curso de Graduação em Medicina da Universidade Federal de Santa Catarina, em 27 de novembro de 2005.

ANEXO 1

FICHA DE COLETA DE DADOS

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO – UFSC – SERVIÇO DE ONCOHEMATOLOGIA

Nome: **Registro:**

Nunca fez tratamento para doença oncohematológica no HU: () – neste caso é excluído

Excluído por outro motivo () causa:

Idade:	Sexo:	Procedência:	Data preenchimento: / /
Peso:	Altura:	SC:	G. Instrução:
		Recidiva: <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim	Data diagnóstico atual: / /
Data de nascimento: / /		Natural de:	Raça: ()Caucasiano ()Não caucasiano

Profissão: ()Agricultor ()Cabeleireiro ()Eletricista ()Outra

Data da última consulta: / / **Data do primeiro diagnóstico:** / / **IPI:**

PRIMEIRO DIAGNÓSTICO:

DIAGNÓSTICO: **CID-10:** **Morfológico:**

Estadio: ()IA ()IB ()IIA ()IIB ()IIIA ()IIIB ()IVA ()IVB **Data início dos sintomas:** / /

LDH elevado: ☐ não ☐ sim **Sítio extranodal:** ☐ não ☐ sim

Sintomas B: ()Não ()Febre inexplicada > 38° C ()Sudorese noturna ()Perda de peso > 10%

Envolvimento de: SNC: ☐ não ☐ sim **medula óssea:** ☐ não ☐ sim **Esplenomegalia** ☐ não ☐ sim **Hepatomegalia:** ☐ não ☐ sim

Doença mediastinal: ☐ não ☐ sim **Doença Bulky:** ☐ não ☐ sim **Local:**

Gânglios palpáveis: ☐ não ☐ sim Cervical anterior ☐ E/D:.....cm Cervical posterior ☐ E/D:.....cm Axilar ☐ E/D:.....cm Inguinal ☐ E/D:.....cm

Resposta ao tratamento:

Terapêutica de primeira linha: () Resposta completa () Resposta parcial () Sem resposta **Data:** / /

Data início: / / **Data término:** / / **Protocolo:**

Terapêutica de segunda linha (qdo sem EC à de primeira linha): () Resposta completa () Resposta parcial () Sem resposta

Data início: / / **Data término:** / / **Protocolo:**

Desistiu do tratamento: ☐ não ☐ sim **Data:** / / **Óbito:** ☐ não ☐ sim **Data:** / /

PRIMEIRA RECIDIVA:

DIAGNÓSTICO: **CID-10:** **Morfológico:**

Estadio: ()IA ()IB ()IIA ()IIB ()IIIA ()IIIB ()IVA ()IVB **Data início dos sintomas:** / /

LDH elevado: ☐ não ☐ sim **Sítio extranodal:** ☐ não ☐ sim

Sintomas B: ()Não ()Febre inexplicada > 38° C ()Sudorese noturna ()Perda de peso > 10%

Envolvimento de: SNC: ☐ não ☐ sim **medula óssea:** ☐ não ☐ sim **Esplenomegalia** ☐ não ☐ sim **Hepatomegalia:** ☐ não ☐ sim

Doença mediastinal: ☐ não ☐ sim **Doença Bulky:** ☐ não ☐ sim **Local:**

Gânglios palpáveis: ☐ não ☐ sim Cervical anterior ☐ E/D:.....cm Cervical post ☐ E/D:.....cm Axilar ☐ E/D:.....cm Inguinal ☐ E/D:.....cm

Resposta ao tratamento:

Terapêutica de primeira linha: () Resposta completa () Resposta parcial () Sem resposta **Data:** / /

Data início: / / **Data término:** / / **Protocolo:**

Terapêutica de segunda linha (qdo sem RC à de primeira linha): () Resposta completa () Resposta parcial () Sem resposta

Data início: / / **Data término:** / / **Protocolo:**

Desistiu do tratamento: ☐ não ☐ sim **Data:** / / **Óbito:** ☐ não ☐ sim **Data:** / /

EXAMES COMPLEMENTARES:

Imunofenotipagem (marcadores positivos): / /

CD1a ☐ / CD3c ☐ / CD3s ☐ / CD4 ☐ / CD5 ☐ / CD7 ☐ / CD8 ☐ / CD9 ☐ / CD10 ☐ / CD11c ☐ / CD13 ☐ / CD14 ☐ / CD15 ☐
 CD16 ☐ / CD19 ☐ / CD20 ☐ / CD22 ☐ / CD23 ☐ / CD24 ☐ / CD25 ☐ / CD30 ☐ / CD33 ☐ / CD34 ☐ / CD38 ☐ / CD41 ☐ / CD43 ☐
 CD45 ☐ / CD59 ☐ / CD63 ☐ / CD65 ☐ / CD79a ☐ / CD79b ☐ / CD103 ☐ / CD138 ☐ / FMC7 ☐ / IgMc ☐ / IgMs ☐ / Bcl2 ☐ / Bcl6 ☐
☐ HLA-Dr ☐ / Tdt ☐ / Kappa ☐ / Lambda ☐ Outros marcadores positivos.....Marcadores negativos:.....

Conclusão:

Imunohistoquímica:

MIELOGRAMA:/...../.....

ANATOMO PATOLÓGICO:/...../..... (Material:.....)

CITOGENÉTICA:/...../.....

TC DE TÓRAX:/...../.....

TC DE ABDOMEN:/...../.....

TC DE PESCOÇO:/...../.....

Resposta ao tratamento nas outras recidivas:

Recidiva nº: Resposta completa ☐ não ☐ sim Resposta parcial ☐ não ☐ sim Sem resposta ☐ não ☐ sim **Data:** / /

Mudança terapêutica: **Data:** / / **Protocolo:**

Recidiva nº: Resposta completa ☐ não ☐ sim Resposta parcial ☐ não ☐ sim Sem resposta ☐ não ☐ sim **Data:** / /

Mudança terapêutica: **Data:** / / **Protocolo:**

Morte: **Data:**/...../..... **Causa:**

Nome do autor do preenchimento da ficha:

ANEXO 2
PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS



**UNIVERSIDADE FEDERAL
DE SANTA CATARINA**

**Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos**

Campus Prof. João David Ferreira Lima – CEP 88040-900
Trindade - Florianópolis - Santa Catarina - Brasil | www.cep.ufsc.br / +55 (48) 3721-9206

Ofício n.º 50/CEPSH/PRPE/10

Florianópolis, 9 de setembro de 2010.


À Senhora
Joanita Ângela Gonzaga Del Moral
Pesquisadora

Assunto: Ciência e aprovação do relatório parcial e adendo ao projeto 224/06.

Senhora Pesquisadora,

1. Informamos que este Comitê de Ética tomou ciência e aprovou na reunião do dia 30 de agosto de 2010, o relatório parcial e o pedido de prorrogação de prazo e inclusão de pesquisador principal, do projeto protocolado sob o n.º 224/06 intitulado “Estudo sobre a prevalência, características clínicas sócio-demográficas e sobrevida dos pacientes com linfoma não-Hodgkin – B (LNH-B) no período de 1998-2005 no hospital universitário – UFSC”.
2. No relatório datado de 23/07/2010, dá conta do termino dos trabalhos de 2 dos pesquisadores principais (estudo começou em outubro de 2006) e a inclusão de um outro pesquisador principal, que vai utilizar os dados já coletados, incluindo mais objetivos. Além disso, relata que os resultados já obtidos renderam uma publicação e apresentação em evento científico. Somos pela aprovação.
3. No pedido de prorrogação e inclusão de pesquisador principal apresenta um novo cronograma e o currículo do novo pesquisador principal (Carlos Sitta Sabaini). Somos pela aprovação.

Atenciosamente,


Profª Magda Santos Koerich
Subcoordenadora
CEPSH/PRPE/UFSC

FICHA DE AVALIAÇÃO

A avaliação dos trabalhos de conclusão do Curso de Graduação em Medicina obedecerá aos seguintes critérios:

1º. Análise quanto à forma (O TCC deve ser elaborado pelas Normas do Colegiado do Curso de Graduação em Medicina da Universidade Federal de Santa Catarina);

2º. Quanto ao conteúdo;

3º. Apresentação oral;

4º. Material didático utilizado na apresentação;

5º. Tempo de apresentação:

- 15 minutos para o aluno;
- 05 minutos para cada membro da Banca;
- 05 minutos para réplica

DEPARTAMENTO DE: _____

ALUNO: _____

PROFESSOR: _____

NOTA

1. FORMA

2. CONTEÚDO

3. APRESENTAÇÃO ORAL.....

4. MATERIAL DIDÁTICO UTILIZADO.....

MÉDIA: _____ (_____)

Assinatura: _____